مجله علمی – پژوهشی زیست شناسی جانوری تجربی

سال اول، شماره اول، بهار ۱۳۹۱ (۴۶ – ۳۵)

بررسی شاخص رسیدگی نهایی تخمک (GVBD) در تاس ماهی ایرانی در شرایط *in vitro* به عنوان معیار انتخاب مولد

بهزاد طعنه*[1]، بهروز ابطحی[2]، رجب محمد نظری[3]

۱. مربي گروه زيست شناسي، دانشگاه پيام نور

۲. استاديار دانشكده علوم زيستي، دانشگاه شهيدبهشتي

۳. كارشناس كارگاه تكثير و پرورش ماهيان خاوياري شهيد رجايي ساري

(تاريخ دريافت: ۱۳۹۱/۰۱/۲۸ ، تاريخ تصويب: ۱۳۹۱/٤/۲۱)

چکیده

یکی از مسائل مهم در تولید مثل ماهیان خاویاری، انتخاب مولدین قادر به تولید گامت های رسیده با کیفیت بالا، پس از تحریک هورمونی است. لذا در این تحقیق شاخص رسیدگی نهایی تخمک (GVBD[1]) در شرایط *in vitro* به عنوان یک معیار مناسب برای انتخاب مولد توانا مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور از ۱۰ قطعه ماهی مولد تاس ماهی ایرانی، *Acipenser persicus* که در فصل مهاجرت از دریا صید شده اند استفاده گردید. از هر مولد حدود ۱۵۰ تخمک استخراج شده بوسیله سوند فلزی در محیط کشت RM_2[2] حاوی ۱۰µ.l پروژسترون (*in vitro*) جهت القاء رسیدگی نهایی تخمک و بررسی شاخص آن کشت داده شدند. شاخص رسیدگی نهایی تخمک ها در *in vitro* و *in vivo* مورد مقایسه قرار گرفت و اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده گردید ($P<0.01$). همچنین مولدینی که مقدار درصد وقوع GVBD تخمک ها در *in vitro* بیش از ۵۰٪ بود در مقایسه با مولدینی که این مقدار کمتر از ۵۰٪ بود در پاسخ به هورمون رسیدگی مقدار اوولاسیون، درصد لقاح و بازماندگی انکوباسیون بالاتری نشان دادند ($P<0.05$). در نهایت استفاده از روش بررسی شاخص رسیدگی نهایی تخمک در شرایط *in vitro* برای انتخاب مولد قابلیت بیشتری نسبت به شاخص رسیدگی نهایی تخمک در شرایط *in vivo* و هم نسبت به شاخص قطبیت هسته نشان داد.

واژه های کلیدی: تاس ماهی ایرانی، *in vitro*، GVBD، رسیدگی نهایی تخمک، انتخاب مولد

---

* نویسنده مسئول: بهزاد طعنه

Email: taneh@pnu.ac.ir

1. Germinal Vesicle Breakdown
2. Williot 1997 (Ringer modified solution for sturgeons)

مقدمه

تاس ماهی ایرانی (قره برون) *Acipenser persicus* Borodin 1897 یکی از گونه های مهم اقتصادی حوضه جنوبی دریای خزر است که برای تخم ریزی طبیعی به رودخانه مهاجرت می کند (Nazari et al., 1380). امروزه این ماهیان به واسطه ترکیبی از عوامل بیولوژیکی (سن بلوغ بالا و زمان طولانی بین دوره تخم ریزی) و عوامل انسانی در معرض خطر نابودی می باشند (Qasemi, 1382). جهت کمک به حفظ و افزایش ذخایر تاس ماهیان در دریای خزر، به طریقه مصنوعی مورد تکثیر و پرورش قرار گرفته و بچه ماهیان آن در رودخانه های منتهی به دریا رها سازی می شوند (Nazari et al., 1381).

انتخاب مولدین مستعدتر، احتمال موفقیت آمیز شدن تکثیر مصنوعی را افزایش می دهد. در نتیجه احتمال هدر رفتن خاویار را به علت عدم جواب دهی مولدین غیر آماده کاهش می دهد و این امر به نوبه خود از تلفات بی مورد مراحل مختلف تکاملی یعنی در زمان لقاح مصنوعی، مرحله انکوباسیون تخم و مرحله پرورش اولیه لاروی جلوگیری می کند (Nazari, 1380). با رایج شدن استفاده از ماهیان مولد که موقعیت هسته تخمک (GV) آنها مناسب باشد، مشکلات جدیدی ظاهر شد. با وجود مناسب بودن موقعیت هسته تخمک (GV) ماهیان مولد و استفاده از روش کار یکسان، مشاهده شده است کیفیت تکثیر مصنوعی، مسیر یکسانی را طی نمی-کنند و اختلاف فاحشی در درصد لقاح، درصد تلفات مراحل انکوباسیون و اولیه لاروی وجود دارد (Nazari, 1380).

یکی از مسائل مهم برای تولید مثل مصنوعی ماهیان خاویاری، انتخاب مولدین قادر به تولید گامت های رسیده با کیفیت بالا، پس از تحریک هورمونی است. رسیدگی نهایی تخمک در آزمایشگاه (*in vitro*) به عنوان روش خوبی برای این کار مطرح می باشد (Goncharov, 2002). مطالعات رسیدگی فولیکول های تخمدان ماهی ۳ هدف را بشرح زیر دنبال می کند: اول اینکه به تحقیق در مورد ارتباط انتهای دوره رشد تخمک تا مرحله تخمک گذاری می پردازد. دوم پرداختن به رسیدگی نهایی تخمک گروه ملاحظه شده به عنوان یک سنجش زیستی جهت آماده سازیهای هورمونی مختلف (17α,20β-P) است و سوم تعیین بهترین مرحله فیزیولوژیکی مولدین ماده برای تزریق هورمونی به ویژه برای تاس ماهیان است (Williot, 1997).

با توجه به اینکه انتخاب محیط کشت انکوباسیون اهمیت دارد. تهیه محیط کشت جدید بر اساس خصوصیات پلاسمای ماهی (Williot, 1997) انجام گردید.

اهداف مورد نظر تحقیق حاضر عبارت بودند از:

۱- بررسی ارتباط رسیدگی نهایی تخمک (GVBD) در شرایط کشت *in vitro* با اوولاسیون، نسبت لقاح و انکوباسیون تاس ماهی ایرانی

۲- به دست آوردن روش کم هزینه، قابل اجرا و مطمئن برای انتخاب مولدین تاس ماهی ایرانی

مواد و روش ها

این تحقیق طی فصل مهاجرت تاس ماهیان (بهمن تا اردیبهشت) انجام گردید و از ۱۰ قطعه تاس ماهی ایرانی مولد که به مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید رجایی ساری آورده شده بودند استفاده شد.

ترکیب و تهیه محیط کشت RM_2

RM_2 یا محلول رینگر اصلاح شده برای تاس ماهیان (Williot, 1997).

– NaCl (۴,۹۱۴ گرم)، KCl (۲۵۰ میلی گرم)، $CaCl_2$ (۳۱۵ میلی گرم)، $NaHCO_3$ (۱,۹۹ میلی گرم) و در محیط کشت آنتی بیوتیک بصورت زیر اضافه گردید:

– استرپتومایسین ۲۵۰۰۰۰ واحد

– پنی سیلین ۵۰۰۰۰۰ واحد

مواد شیمیایی مورد نظر طبق فرمول، در آزمایشگاه ابتدا ترکیب و سپس به حجم رسانده شده و pH آنها بین ۸-۷/۵ تنظیم شد. هورمون پروژسترون درست قبل از کشت تخمک ها در *in vitro* به کمک سرنگ انسولین ۱۰ میکروگرم در لیتر (Nazari et al., 2001) به محیط کشت افزوده شد.

نمونه برداری ها از مولدین و اندازه گیری ها در *in vitro*

نمونه گیری تخمک جهت کشت در *in vitro* و بررسی GVBD، قبل از تزریق هورمون القاء کننده رسیدگی به مولدین هنگام ورود آنها به کارگاه انجام گردید. این کار بوسیله سوند فلزی مخصوص صورت گرفت از هر مولد حدود ۱۴۰-۱۶۰ تخمک استحصال شد. حدود ۲۰ نمونه از این تخمک ها به عنوان شاهد داخل فرمالین ۱۰ درصد فیکس شده و بقیه، در ظرف های محیط کشت که از قبل آماده شده بودند و حاوی پروژسترون بودند قرار گرفته و کشت داده شد. جهت ثابت نگهداشتن دما ظرف ها

درون حمام آب سرد قرار گرفتند. بعد از کشت تخمک ها، در ۶ مرحله و هر ۶ ساعت یکبار نمونه گیری از محیط کشت صورت گرفت بصورتیکه در هر مرحله بطور میانگین ۸ تخمک از محیط ها بوسیله میکروسمپلر برداشت و بلافاصله در قوطی های مخصوص حاوی فرمالین ۱۰ درصد فیکس می شدند. برای تهیه برش، تخمک ها را از فرمالین خارج نموده و حداقل به مدت ۲ دقیقه روی چراغ الکلی جوشانده شد و بلافاصله آب سرد به آنها اضافه گردید تا نمونه ها سفت شده و برای برش آماده شوند. برای برش زدن بعد از مشخص کردن قطب حیوانی و گیاهی بوسیله اسکالپل از محور حیوانی- گیاهی برش صورت گرفت. در تخمک هایی که رسیدگی نهایی (GVBD) در *in vitro* القاء شده هسته ناپدید می گردد.

نمونه برداری ها و اندازه گیری ها در *in vivo*

شامل: بیومتری تخمک، برش زنی تخمک ها و روش محاسبه شاخص قطبیت PI

درست قبل از عمل تکثیر تخمک های مولدین حدود ۱۰۰ تخمک بصورت تصادفی از هر مولد برداشت گردید و بلافاصله در ظروف مخصوص حاوی فرمالین ۱۰ درصد فیکس گردیدند. سپس تخمک ها جهت برش آماده شدند. برای برش زدن بعد از مشخص کردن قطب حیوانی و گیاهی بوسیله اسکالپل از محور حیوانی- گیاهی برش صورت گرفت. برای اندازه گیری قطر تخمک محور حیوانی- گیاهی در نظر گرفته شد و با محاسبه فاصله هسته تا قطب حیوانی تقسیم بر قطر تخمک شاخص قطبیت هسته بدست آمد (Nazari et al., 1381).

تعیین درصد لقاح، درصد بازماندگی انکوباسیون

از تخم های لقاح داده شده ۱۹۵-۲۲۵ دقیقه بعد، زمانی که آثار دومین تقسیم میتوزی در سطح قطب حیوانی تخم ظاهر شد (بسته به دمای محیط و کیفیت تخم) حدود ۱۵۰ نمونه از هر مولد برای تعیین درصد لقاح انتخاب و بلافاصله فیکس شدند تا در زیر میکروسکوپ بررسی شوند. درصد لقاح تخم ها از محاسبه تعداد تخم های لقاح یافته منو اسپرمی به کل تخم ها بدست می آید (Dettlaff et al.,1993).

۱۰۰ × کل تخم ها /تخم های منواسپرمی = درصد لقاح

حدود ۲۰۰ عدد تخم از هر مولد که داخل انکوباتور قرار داشتند پس از بهم زدن بطور تصادفی برداشت و در انکوباتورهای جداگانه با شرایط یکسان انکوباسیون شدند تا پس از ۴ الی ۵ روز تخم های

سالم که به لارو تبدیل شدند شمارش و درصد بازماندگی آنها تعیین گردد.

بررسی میکروسکوپی و تعیین درصد GVBD

با بررسی تخمک های برش خورده وقوع یا عدم وقوع GVBD در آنها یادداشت شد و برای گروه شاهد و نمونه هایی که GVBD در آنها روی نداده بود میزان شاخص قطبیت هسته (PI) محاسبه گردید. درصد GVBD ابتدا در هر مرحله از محیط کشت بصورت مجزا بررسی و میانگین آنها تعیین شد، و سپس میانگین درصد آنها در هر ۶ مرحله بطور کل محاسبه گردید تا درصد وقوع GVBD برای هر مولد در محیط کشت مشخص گردد. بواسطه بزرگ بودن تخمک تاسماهی بررسی ناپدید شدن هسته در زیر میکروسکوپ واضح و مشخص بود.

روش های آماری

برای مقایسه میانگین های مقدار GVBD در *in vitro* و *in vivo* از آزمون t استفاده شد و نیز برای مقایسه درصد لقاح و بازماندگی انکوباسیون در دوگروه تفکیک شده بر اساس ۵۰٪ GVBD محیط کشت مصنوعی از آزمون t استفاده شد. برای بررسی همبستگی بین مقادیر GVBD در *in vitro* با *in vivo* و همچنین همبستگی بین رسیدگی القاء شده در *in vitro* با درصد لقاح و بازماندگی انکوباسیون و نیز همبستگی رسیدگی القاء شده در *in vitro* با شاخص قطبیت هسته (PI) از آزمون پیرسون[1] استفاده گردید. محاسبات با استفاده از برنامه های SPSS و Excel صورت گرفته است.

نتایج

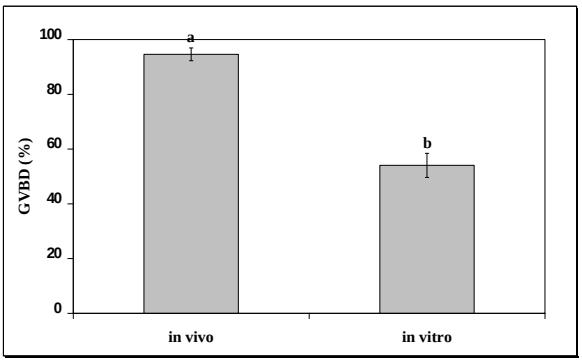
شاخص های رسیدگی PI و GVBD در *in vivo* و *in vitro*

نتایج بدست آمده از مقادیر شاخص قطبیت هسته (PI) تخمک ها قبل از تزریق هورمونی مولدین و همچنین نتایج بدست آمده از میزان درصد وقوع GVBD تخمک ها در محیط طبیعی (قبل از لقاح مولد، *in vivo*) و در محیط کشت مصنوعی (*in vitro*) در ده مولد مورد تحقیق بصورت زیر بررسی گردید.

با بررسی همبستگی بین میزان درصد وقوع GVBD روی داده در شرایط *in vivo* و *in vitro* رابطه معنی داری بین آنها مشاهده نگردید (۰/۲۴۷ = r). و با استفاده از آزمون فرض های آمار مشاهده گردید که اختلاف موجود بین مقدار درصد وقوع GVBD تخمک ها در محیط طبیعی (*in vivo*) با

1- Pearson Correlation

مقدار درصد وقوع آن در شرایط *in vitro* معنی دار است (P< 0.01 ،**)(شکل ۱).

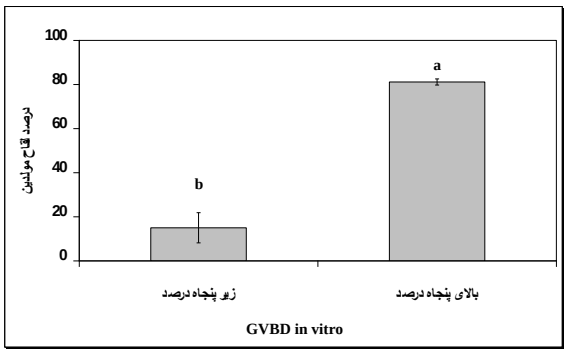


شکل ۱ – میانگین درصد وقوع GVBD تخمک های تاس ماهی ایرانی در شرایط *in vitro* و *in vivo* و مقایسه آنها (ستونهای مشخص شده با حروف غیر همنام دارای اختلاف معنی دار هستند (P<0.01) .

بررسی همبستگی مقادیر شاخص قطبیت هسته (PI) با میزان درصد وقوع GVBD در *in vitro* نشان داد که رابطه معنی داری بین آنها وجود ندارد (r = −۰/۵۱۱). همچنین رابطه معنی داری بین مقدار شاخص قطبیت هسته (PI) با مقادیر درصد لقاح و درصد بازماندگی انکوباسیون مشاهده نگردید (r = −۰/۲۵۵ و r = −۰/۳۰۶).

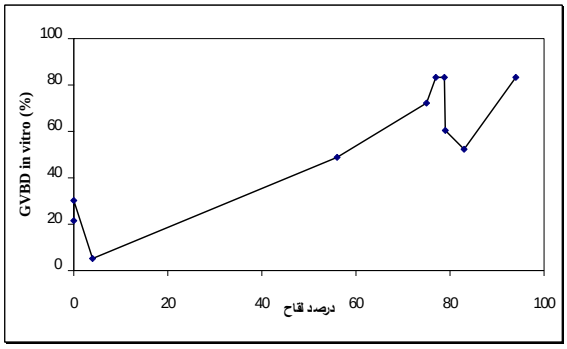
درصد لقاح و بررسی آن در دو گروه :

با تعیین درصد لقاح در نمونه های مورد تحقیق، نتایج آنها در دو گروه مولدینی که قبلا بر اساس درصد وقوع GVBD تخمک ها بیشتر و کمتر از ۵۰٪ در *in vitro* تفکیک شده بودند مقایسه گردید. با استفاده از آزمون t مشاهده گردید که اختلاف مقدار درصد لقاح در این دو گروه معنی دار است (P< 0.05 ،*)(شکل ۲).



شکل ۲ – میانگین درصد لقاح مولدین تاس ماهی ایرانی در دو گروهی که قبلاً بر اساس درصد وقوع GVBD تخمک ها بیشتر و کمتر از ۵۰٪ در *in vitro* تفکیک شده بودند و مقایسه آنها (ستونهای مشخص شده با حروف غیر همنام دارای اختلاف معنی دار هستند(P<0.05).

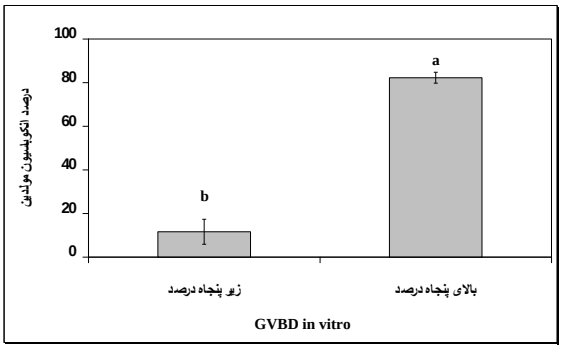
با بررسی همبستگی مقادیر درصد لقاح با میزان درصد وقوع GVBD تخمک ها در شرایط *in vitro* رابطه معنی داری بین آنها مشاهده گردید (r= ۰/۸۹۶)(شکل ۳).



شکل ۳ – رابطه موجود بین مقادیر درصد لقاح مولدین تاس ماهی ایرانی با میزان درصد وقوع GVBD تخمک ها در شرایط *in vitro*

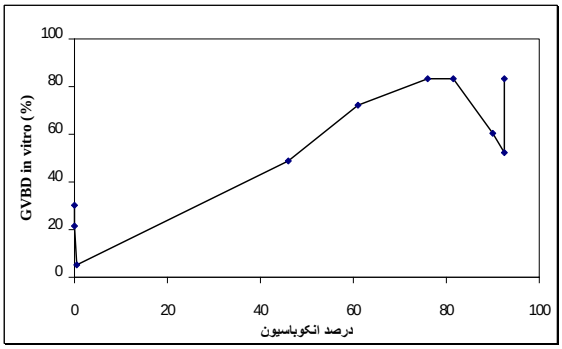
درصد بازماندگی انکوباسیون و بررسی آن در دو گروه:

میزان بازماندگی تخم ها در انکوباسیون برای هر مولد تعیین و مقادیر آن در دو گروه (که قبلاً بر اساس وقوع GVBD بیشتر و کمتر از ۵۰٪ در *in vitro* تفکیک شده بودند) بوسیله آزمون t بررسی گردید. نتایج بدست آمده معنی دار بودن اختلاف مقادیر درصد بازماندگی انکوباسیون در دو گروه را نشان می دهد ($P< 0.01$، **)(شکل۴).



شکل ۴ – میانگین درصد انکوباسیون تخم های تاس ماهی ایرانی در دو گروهی که قبلاً بر اساس درصد وقوع GVBD تخمک ها بیشتر و کمتر از ۵۰٪ در *in vitro* تفکیک شده بودند و مقایسه آنها (ستونهای مشخص شده با حروف غیر همنام دارای اختلاف معنی دار هستند ($P< 0.01$).

همچنین با بررسی همبستگی مقادیر درصد بازماندگی انکوباسیون تخم ها با میزان درصد وقوع GVBD در شرایط *in vitro* رابطه بین آنها معنی دار مشاهده گردید (r= ۰/۸۵۷) (شکل ۵).



شکل ۵– رابطه موجود بین مقادیر درصد بازماندگی انکوباسیون تخم های مولدین تاس ماهی ایرانی با میزان درصد وقوع GVBD تخمک ها در شرایط *in vitro*

نتیجه گیری و بحث

پژوهش در مورد رسیدگی آزمایشگاهی (*in vitro*) فولیکول های تخمدانی تاس ماهی ایرانی اغلب در برگیرنده جنبه های کلی و عمومی بوده و اطلاعات درباره اثرات محیط کشت انکوباسیون بر رسیدگی تخمک ها ناچیز است. لذا در این تحقیق با استفاده از محیط کشت RM_2 تلاش گردید تا به ارزیابی شاخص رسیدگی نهایی تخمک های تاس ماهی ایرانی بصورت *in vitro* پرداخته شود و در خاتمه نیز این روش به عنوان معیاری توانا در تشخیص مولد مناسب برای تکثیر تأیید گردید.

Williot (1997) در بررسی اثرات محیط کشت انکوباسیون روی رسیدگی نهایی به این نتیجه دست یافت که پاسخ به هورمون القاء کننده ۱۷–آلفا،۲۰–بتا دی هیدروکسی پروژسترون در محیط کشت

هـــای RM2 و L15 (Leibovitz medium) مشابه می باشد. وی مشاهده نمود که تنهـا در القـاء رسیدگی بوسیله هورمون گنادوتروپین تـاس ماهیـان (aci-GTH) برای یک مولد ماده، میانه غلظت مـوثر (EC_{50}) در محیط کشت های مختلـف تفـاوت دارد، بنـابراین هورمـون گنـادوتروپین وابسـته بـه محـیط کشـت اسـت در حالیکـه هورمـون القـاء کننـده ۱۷آلفا،۲۰بتا دی هیدروکسی پروژسـترون (بـا عامـل مشابه هورمونی در RM2p) کمتر تحت تاثیر محیط قرار گرفته و مستقل از محیط کشت عمل می کنـد. در این حالت محیط های کشت مختلف تفاوت معنی داری از لحاظ میزان وقوع GVBD نشان نمی دهند. همچنـین .Williot et al (1991) توانـایی تـاثیر دو استروئید (P4 و 17α,20β-P) در القـاء رسـیدگی را یکسان مشاهده نمودند. این یافته ها می توانـد مـا را به استفاده از هورمون های استروئیدی جهت بررسی رسیدگی در *in vitro* هدایت کند.

در تحقیق حاضر بررسـی همبسـتگی بـین میـزان درصد وقوع GVBD تخمک ها در شرایط *in vivo* و *in vitro* عدم وجود رابطه بین آنها را نشـان مـی دهد و اختلاف موجود بین میانگین های آنهـا معنـی دار بود ($P< 0.01$)(شکل ۱). وقوع GVBD بالا در *in vivo* برای مولدین ۲ ، ۹و GVBD پایین در *in vitro* برای آنها دلیل این اخـتلاف مـی باشـد. ایـن اختلاف خود می تواند بواسطه تـأثیر شـرایط داخلـی مولد بر فولیکولها باشد کـه ایـن اثـرات در وضـعیت استرسـی بـر مـاهی وارد شـده و در *in vitro* ایـن اثرات روی تخمک اعمـال نمـی شـود (Nazari et al., 2001). کما اینکـه Webb et al. (2000) در بررسی های خود مشاهده نمودند، از دو مولـدی کـه GVBD در هر دو آنها روی داده بود تنهـا در یکـی تخمک گذاری در پاسخ به هورمون تحریـک کننـده رخ داد. علت این عدم همبستگی ها بـین *in vivo* و *in vitro* را Goncharov (2002) به این صـورت بیان نمود که تخمـک مولـدین در شـرایط نامسـاعد زیستی آنها کیفیت خود را از دست می دهنـد لـیکن صدمه قابل توجه ای به سیستم پاسـخ بـه هورمـون رسیدگی تخمک در ماهی وارد نمی گردد. همچنـین القاء رسـیدگی تخمـک توسـط گنـادوتروپین در *in vitro* ، می تواند تحت الشعاع روش آماده سـازی و انتخاب محیط کشت باشد (Webb et al., 2001).

نتایج بررسی همبستگی شـاخص قطبیـت هسـته (PI) با GVBD در *in vitro* نشان مـی دهـد کـه رابطه ای بـین آنهـا وجـود نـدارد و نیـز بـر خـلاف شاخص GVBD در *in vitro* ، شاخص PI با درصد لقـاح و درصـد بازمانـدگی انکوباسـیون همبسـتگی

بالایی نشان نمی دهد، طوریکه در برخی مولدین که شاخص PI آنها بزرگتر از ۰/۰۷ بود رسیدگی نهایی بخوبی القاء شده، تخمک گذاری و لقاح و انکوباسیون بخوبی صورت گرفته است، یا در برخی مولدینی که دارای شاخص PI کمتر از ۰/۰۷ بودند رسیدگی، تخمک گذاری، لقاح و انکوباسیون پایین بوده است. به همین ترتیب نیز Williot et al. (1991) در مقایسه شاخص PI و شاخص GVBD القاء شده با ۱۷آلفا،۲۰بتا دی هیدروکسی پروژسترون مشاهده نمودند که استفاده شاخص قطبیت به تنهایی ناکافی و دارای محدودیت است، طبق نتایج آنها شاخص GVBD در *in vitro* معیار بهتری نسبت به شاخص PI است. استفاده از این روش حدود ۸۰٪ موفقیت در انتخاب مولد رسیده را بدست آورده است. در تحقیق حاضر از ۱۰ مولد مورد بررسی، در ۲ مولد اوولاسیون اتفاق نیافتاد. این مولدین میزان درصد GVBD تخمک پایینی در *in vitro* بدست آورده بودند (مولدین شماره ۶ و ۹) و مولد شماره ۲ با وجود انجام اوولاسیون، کیفیت تخم بسیار پایین داشته و درصد لقاح آن تنها ۰/۵٪ بود. لذا نتایج بدست آمده این تحقیق با نتایج سایر محققین مطابقت دارد.

مقادیر درصد لقاح و درصد بازماندگی انکوباسیون در دو گروه مولدینی که قبلاً بر اساس میزان درصد وقوع GVBD تخمک ها بیشتر و کمتر از ۵۰٪ در *in vitro* تفکیک شده بودند دارای اختلاف معنی دار بوده اند (*). در گروه اول که میزان درصد وقوع GVBD تخمک بیشتر از ۵۰٪ است مقدار درصد لقاح و درصد بازماندگی انکوباسیون بیشتری نسبت به گروه دوم (که میزان درصد وقوع GVBD تخمک کمتر از ۵۰٪ دارند) مشاهده گردید. این نتایج قابلیت تشخیص کیفیت تخمک ها بوسیله بررسی رسیدگی نهایی تخمک بصورت *in vitro* را نشان می دهد.

بررسی همبستگی بین رسیدگی نهایی (GVBD) القاء شده در *in vitro* با کیفیت تخمک ها در شرایط *in vivo* از جمله درصد لقاح و درصد بازماندگی انکوباسیون نشان می دهد که دارای رابطه مستقیم هستند.

بنابراین جهت انتخاب مولدین مستعد تکثیر تاس ماهی ایرانی در کارگاه ها روش بررسی شاخص رسیدگی نهایی تخمک (GVBD) بصورت *in vitro* مناسب بوده و بکاربردن آن توصیه می گردد.

این روش نسبت به شاخص قطبیت هسته اولویت داشته و قابلیت اعتماد به آن بیشتر است (Williot et al., 1997).

سپاسگزاری

بدین وسیله از تمامی عزیزانی که در انجام این مطالعه همکاری نمودند، سپاسگزاری می گردد.

REFERENCES:

Dettlaff TA, Ginsburg AS, Schmalhausen OI . Sturgeon Fishes: Developmental Biology and Aquaculture. Springer-Verlag; 1993: 300 pp.

Goncharov BF. *In vitro* approach to studying the mechanisms of oocyte maturation in sturgeon: a review of fundamental and applied aspects. J. Appl. Ichthyol 18; 2002: 368-374.

Nazari RM. The study of correlation between some oocyte biochemical features & blood serum with stepes of sexual maturation in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*), PhD thesis, Tarbiat Modares University; 1380:pp. 83.

Nazari RM, Yosefian M, Rezaeian M, Gholamipor S. The study of correlation between oocyte biochemical feature with fertilization percent in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*), pazhohesh & Sazandegi 55; 1381:pp. 84-91.

Nazari RM, Yosefian M, Mojazi Amiri B, Soltani M. The study of sexual steroids regulations & it correlation with oocyte evolution in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*), Pazhohesh & Sazandegi 53; 1380: pp. 89-94.

Nazari RM, Yousefian M, Mojazi Amiri B, Soltani M. Study on the relationship between sex steroid levels and propagation quality in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*), Pajouhesh & sazandegi 51;2001:pp. 51- 57 .

Qasemi SA. Genetic diversity correlation of sheep fish (*Acipenser nudiventris*) in southern beach of Caspian sea & oral river used from PCR-RFLP method. graduate thesis, Tarbiat Modares University;1382: pp. 73.

Webb MAH, Van Eenennaam JP, Doroshov SI. Effects of steroid hormones on in vitro oocyte maturation in white sturgeon (Acipenser transmontanus). Fish Physiol. Biochem. 23; 2000:317-325.

Webb MAH, Van Eenennaam JP, Feist GW, Linares-Casenave J, Doroshov SI. Effects of thermal regime on ovarian maturation and plasma sex steroids in farmed white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Aquaculture 201;2001:137-151.

Williot P. Effects of incubation media on maturation of isolated ovarian follicles of Siberian sturgeon (Acipenser baeri Brandt) induced by sturgeon gonadotropic preparation or 17α,20βdihydroxyprogesterone.Comp.Biochem.Physiol C 118;1997:285-293.

Williot P, Burn R, Rouault T, Rooryck O. Management of female spawners of Siberian sturgeon, Acipenser baeri Brandt: First results. In: P. Williot (Ed.) Acipenser, CEMAGREF Publ., Bordeaux;1991:pp.365-379.

In vitro assessment of final oocyte maturation index (GVBD) in Persian Sturgeon and broodstock selection

B. Taneh [*1], B. Abtahi [2], R.M. Nazari [3]

1- Lecturer of Biology, Payame noor University

2- Assistant Professor, Shahid Beheshti University

3-BSc., Shahid Rajaei Sturgeon fish farm – Sari

(Received: Apr. 16, 2012; Accepted: Jul. 11, 2012)

Abstract

One of the big problems on Sturgeon Fishes is select of the breeders that have high quality of gametes after hormone injection. So in this research Final oocyte maturation index (GVBD) in *in vitro* for selection of Persian sturgeon Broodstock, *Acipenser persicus*, was studied on 10 females captured from the Caspian Sea during reproduction season. About 150 oocytes from every broodstock, taken by hollow probe, were incubated in incubation media of RM_2 containing 10 µg/l of progesterone for induction of the final oocyte maturation and assessment of GVBD index. Results indicated that significant differences in GVBD of the *in vitro* and *in vivo* were observed (**). However, Broodstockes with rate of GVBD in *in vitro* higher than %50 had a significantly better ovulation, fertilization and incubation rates (*), from those with a GVBD lower than %50. It could be concluded that use from method of assessment of GVBD index under *in vitro* circumstance was preferable to assessment of GVBD index under *in vivo* and also nucleus polarization index for selection of suitable broodstock.

Keywords: *Acipenser persicus*, *in vitro*, GVBD, final oocyte maturation, Broodstock Selection

* Corresponding author: Behzad Taneh Email:taneh@pnu.ac.ir